



TITLE:

ヒト肝細胞における抗RNAウイルス 自然免疫機構の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

津川, 陽司

CITATION:

津川, 陽司. ヒト肝細胞における抗RNAウイルス自然免疫機構の解析. 京都大学, 2015, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19150>

RIGHT:

| | | | |
|--|----------------------------|----|-------|
| 京都大学 | 博士（生命科学） | 氏名 | 津川 陽司 |
| 論文題目 | ヒト肝細胞における抗RNAウイルス自然免疫機構の解析 | | |
| <p>（論文内容の要旨）</p> <p>C型肝炎ウイルス（HCV）はヒトの肝細胞に感染し、増殖することが知られている。しかしながら、ヒト肝細胞の自然免疫機構の詳細は明らかになっていない。申請者の所属研究室で以前に樹立された不死化ヒト肝細胞（HuS-E/2 細胞）は患者血清由来 HCV が感染増殖することが報告されている。そこで、この細胞を用いてヒト肝細胞の自然免疫機構の解析を行った。モデル RNA ウイルスとしてセンダイウイルス（SeV）を用いて、その感染後の自然免疫関連遺伝子群の発現誘導パターンを初代培養ヒト肝細胞（PHH）と比較したところ、両者は非常に良く類似していた。また、ウイルス非感染時においてこれらの培養細胞で共通してインターフェロン（IFN）-α1 遺伝子が低レベルではあるものの恒常的に発現していることを見出した。そこでこの恒常的に発現 IFN-α1 の機能解析をおこない、以下の結果を得た。機能的な IFN-α1 が低レベルながらウイルス非感染時に細胞外に分泌されており、細胞内でウイルス感染の検出に関わる RIG-I などの IFN 刺激応答遺伝子群（ISGs）の発現を上昇させていた。ウイルス感染前に HuS-E/2 細胞を IFN 中和抗体や I 型 IFN 受容体に対する中和抗体で前処理すると SeV や組換え体 HCV の感染によって誘導される ISGs の発現が低下あるいは遅延された。また、この時 SeV や組換え体 HCV の感染増殖が亢進した。これらのことからヒト肝細胞ではウイルス非感染時においてインターフェロン（IFN）-α1 遺伝子が恒常的に発現して ISGs の発現レベルを上昇させており、これによって RNA ウイルス感染時に迅速に効率良く IFN の産生が増強され、IFN の抗ウイルス作用を上昇させるように機能していることが明らかとなった。</p> <p>また、PHH と HuS-E/2 細胞では SeV 感染初期において I 型 IFN と同様に III 型 IFN 遺伝子の発現が誘導されることを見出した。RNA ウイルス感染初期に発現誘導される III 型 IFN の機能を解析するため、I 型 IFN 受容体分子 IFNAR2 と III 型 IFN 受容体分子 IL28RA の siRNA を用いて、それぞれの受容体分子の発現を一過性に抑制した細胞を用いた。これらの細胞では、SeV 感染後の ISGs の発現誘導レベルが、IFNAR2 依存性の高いものと両受容体が協調的に働いているものに分類された。ヒト肝細胞の RNA ウイルス感染に対する初期自然免疫反応において、一部の ISGs の発現は I 型 IFN と III 型 IFN が協調的に働き、誘導されていることがわかった。このことからヒト肝細胞では、RNA ウイルス感染後初期に I 型 IFN と III 型 IFN 遺伝子の発現が誘導され、これらが協調的に機能することで迅速で効率の高い IFN 反応を惹起していることが明らかになった。</p> <p>本研究により、ヒト肝細胞には特異的な自然免疫機構が存在し、I 型と III 型 IFN が巧妙に働き、効率の良い抗ウイルス反応に機能していることが明らかになった。</p> | | | |

(論文審査の結果の要旨)

不死化ヒト肝細胞 HuS-E/2 細胞はその遺伝子発現パターンが初代培養ヒト肝細胞 (PHH) に類似していることが知られていた。申請者はこの細胞を用いてヒト肝細胞における RNA ウイルス感染初期における自然免疫機構の詳細な解析を進めた。その結果、RNA ウイルス非感染状態では、PHH と HuS-E/2 細胞に共通して、低レベルの IFN- α 遺伝子が発現していることを見いだした。この IFN- α が活性型として培養液中に産生されていること、そして、その活性によって、ウイルス非感染 HuS-E/2 細胞内の IFN 刺激応答遺伝子群 (ISGs) の恒常発現が亢進していること示す結果を得た。さらに、IFN- α やその受容体分子に対する中和抗体を用いて、恒常発現 IFN- α の活性を低下させると、センダイウイルスや HCV の感染によって誘導される ISGs の発現が、著しく低下し、感染したウイルスの増殖が亢進することを示した。さらに、HuS-E/2 細胞に RNA ウイルスが感染すると感染初期に III 型 IFN の発現が誘導されることを新たに見出している。さらに、I 型と III 型 IFN 受容体分子を siRNA により一過性に発現低下させた細胞を用いることで、ウイルス感染初期において、ヒト肝細胞では、これまでにわかっている I 型 IFN のみならず、III 型 IFN が I 型 IFN と協調的に機能して、ISGs の発現誘導に役割を果たしていることを明らかにした。

以上の研究成果は、培養ヒト肝細胞において、IFN- α が低レベルで恒常的に産生していることを新たに発見し、これが、ウイルス非感染時において、ウイルス感染を認識して IFN 産生を誘導する受容体や IFN シグナルの亢進に働く ISG の恒常発現レベルを上昇させて、ウイルス感染時において肝細胞の抗 RNA ウイルス自然免疫応答能を向上させる機能を有することを新たに解明したものである。また、これまで不明であった、ウイルス感染初期における III 型 IFN の動態と機能を明らかにしている。

このように、本論文では生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示している。よって、本論文は博士 (生命科学) の学位論文としての価値あるものと認めた。さらに、平成 27 年 01 月 26 日に公聴会を実施し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日